

**PENGARUH DURASI DAN SUHU *BOILING* TERHADAP
KUALITAS DAN KUANTITAS HASIL EKSTRAKSI
DNA SPUTUM UNTUK DETEKSI
*Mycobacterium tuberculosis***



Skripsi

**Diajukan ke Fakultas Kedokteran Universitas Andalas sebagai
Pemenuhan Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan
Gelar Sarjana Ilmu Biomedis**

Pembimbing:

- 1. Dr. dr. Linosefa, Sp.MK**
- 2. Dr. Almurdi, DMM, M. Kes**

Oleh:

**Hana Syifa Oklaufa
NIM: 2110343004**

**PRODI ILMU BIOMEDIS PROGRAM SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2025**

ABSTRACT

The Effect of Boiling Duration and Temperature on the Quality and Quantity of Sputum DNA Extraction for Detecting *Mycobacterium tuberculosis*

By

Hana Syifa Oklaufa, Linosefa, Almurdi, Andani Eka Putra, Nuzulia Irawati, Ilmiawati

Tuberculosis (TB) remains a major global health problem, highlighting the need for efficient and affordable molecular diagnostic methods. DNA extraction is a critical step in the detection of *Mycobacterium tuberculosis*, yet commercial kits are relatively expensive and technically demanding. The boiling method offers a simpler and more economical alternative, but its effectiveness depends on variations in temperature and duration. This study aimed to analyze the effect of different boiling conditions (90°C, 95°C, 100°C; 5, 10, and 15 minutes) on the quality and quantity of sputum DNA from TB patients.

The study was conducted from October 2024 to May 2025. The study was conducted experimentally using the boiling method with the CrownLab® sputum extraction kit, then compared with the commercial gSYNC™ (Geneaid) kit as a control. The quantity of DNA was evaluated using a NanoDrop spectrophotometer, the quality was assessed based on the A260/A280 ratio, while DNA integrity was tested through gel electrophoresis. Validation was performed with real-time PCR using the MPT64 gene target. Data analysis was performed using the Two-Way ANOVA test.

The results showed that boiling duration had a significant effect on DNA quality ($p = 0.00013$), while temperature did not. Conversely, temperature significantly affected DNA quantity, whereas duration had no significant effect. The optimal conditions were found at 90°C–15 minutes for the highest DNA concentration, 95°C–15 minutes for the best purity, and 100°C–15 minutes for the most suitable condition in qPCR analysis. The boiling method successfully produced DNA with adequate integrity and represents a practical alternative for DNA extraction in resource-limited settings.

In conclusion, variations in boiling temperature and duration influence the quality and quantity of sputum DNA, with certain combinations yielding optimal DNA for molecular detection of *M. tuberculosis*.

Keywords: Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, DNA extraction, boiling method, temperature, duration.

ABSTRAK

Pengaruh Durasi dan Suhu *Boiling* terhadap Kualitas dan Kuantitas Hasil Ekstraksi DNA Sputum untuk Deteksi *Mycobacterium tuberculosis*

Oleh

Hana Syifa Oklaufa, Linosefa, Almurdi, Andani Eka Putra, Nuzulia Irawati, Ilmiawati

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan global, sehingga diperlukan metode diagnostik molekuler yang efisien dan terjangkau. Ekstraksi DNA merupakan tahap krusial dalam deteksi *Mycobacterium tuberculosis*, namun metode kit komersial relatif mahal dan kompleks. Teknik boiling menjadi alternatif sederhana dan ekonomis, tetapi efektivitasnya dipengaruhi oleh variasi suhu dan durasi pemanasan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi suhu (90°C, 95°C, 100°C) dan durasi (5, 10, 15 menit) terhadap kualitas dan kuantitas DNA sputum pasien TB.

Penelitian dimulai dari bulan Oktober 2024 hingga Mei 2025. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan metode boiling menggunakan kit ekstraksi sputum CrownLab®, kemudian dibandingkan dengan kit komersial gSYNC™ (Geneaid) sebagai kontrol. Kuantitas DNA dievaluasi dengan spektrofotometer NanoDrop, kualitas dinilai berdasarkan rasio A260/A280, sedangkan integritas DNA diuji melalui elektroforesis gel. Validasi dilakukan dengan real-time PCR menggunakan target gen MPT64. Analisis data menggunakan uji Two-Way ANOVA.

Hasil menunjukkan bahwa durasi boiling berpengaruh signifikan terhadap kualitas DNA ($p = 0,00013$), sedangkan suhu tidak berpengaruh signifikan. Sebaliknya, suhu berpengaruh nyata terhadap kuantitas DNA, sementara durasi tidak berpengaruh. Kombinasi optimal diperoleh pada 90°C–15 menit untuk kuantitas tertinggi, 95°C–15 menit untuk kualitas tertinggi, dan 100°C–15 menit yang paling sesuai untuk aplikasi qPCR. Metode boiling terbukti menghasilkan DNA dengan integritas yang memadai dan dapat menjadi alternatif sederhana untuk ekstraksi DNA di fasilitas dengan keterbatasan sumber daya.

Kesimpulannya, variasi suhu dan durasi boiling memengaruhi kualitas dan kuantitas DNA sputum, dengan kombinasi tertentu dapat menghasilkan DNA yang optimal untuk deteksi molekuler *M. tuberculosis*.

Kata kunci: Tuberkulosis, *Mycobacterium tuberculosis*, ekstraksi DNA, metode boiling, suhu, durasi